

BIOLOŠKI ODSJEK
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
ROOSEVELTOV TRG 6

FIZIOLOŠKI UČINCI POSTA

PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF FASTING

Valentina Runko

Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: prof. dr. sc. Vesna Benković

Zagreb, 2019

Sadržaj

1. Popis skraćenica	3
2. Uvod	4
3. Mitohondriji i oksidativni stres	5
4. Promjene u endokrinom sustavu	6
3.1. Uloga inzulina	6
4.2. Dodatne endokrine reakcije	7
4.3. Hormonska uloga adipoznog tkiva	8
5. Cirkadijani ritmovi u jetri i mišićima	8
6. Ketonska tijela kao alternativni izvor energije	9
5.1. Postizanje ketoze	9
6.2. Učinak na kognitivne sposobnosti	10
7. Autofagija, rak, i dugovječnost	11
6.1. Autofagija	11
6.2. Utjecaj na karcinogenezu	12
6.3. Kronične bolesti i dugovječnost	13
7. Sprječavanje sindroma ponovnog hranjenja	13
8. Literatura	14
9. Sažetak	20
10. Summary	20

1. Popis skraćenica

AGEs (eng. *advanced glycation end products*) = krajnji produkti glikacije

AMPK (eng. *AMP-activated protein kinase*) = proteinska kinaza aktivirana adenzin-monofosfatom

BDNF (eng. *brain-derived neurotrophic factor*) = moždani neurotrofni faktor

BMR (eng. *basal metabolic rate*) = bazalni metabolizam

CR (eng. *caloric restriction/reduction*) = kalorijska restrikcija/redukcija

GUK = koncentracija glukoze u krvi

HGH (eng. *human growth hormone*) = ljudski hormon rasta

HSL (eng. *hormone-sensitive lipase*) = lipaza ovisna o hormonima

IF (eng. *intermittent fasting*) = isprekidani post

IGF-1 (eng. *insulin-like growth factor*) = faktor rasta sličan inzulinu

INSR (eng. *insulin receptor*) = inzulinski receptor

IRS-1 (eng. *insulin-receptor substrate*) = supstrat inzulinskog receptora

mTOR puta (eng. *mammalian target of rapamycin*) = ciljna molekula rapamicina u sisavaca

mTORC1 (eng. *mammalian target of rapamycin complex*) = kompleks ciljne molekule rapamicina u sisavaca

NPY = neuropeptid Y

ROS (eng. *reactive oxygen species*) = kisikovi slobodni radikali (reaktivne vrste kisika)

SREBP1 (eng. *sterol regulatory element-binding protein 1*) = protein koji se veže na regulatorni element sterola

TNF- α (eng. *tumor-necrosis factor alpha*) = čimbenik nekroze tumora alfa

2. Uvod

Današnji uobičajeni način prehrane podrazumijeva nekoliko obroka na dan, što nije bio slučaj tijekom većine naše evolucijske povijesti. U društvu lovaca-sakupljača, razdoblja bez hrane bila su česta, zbog čega su naši predci stekli potrebne fiziološke prilagodbe. Uzimajući to u obzir, često se hipotezira o potencijalnim zdravstvenim dobrobitima posta (Mattson i sur., 2017; Longo i Panda, 2016; Mattson i sur., 2014; Longo i Mattson, 2014). Pod postom se ovdje podrazumijeva potpuno uzdržavanje od hrane te tekućina koje imaju energetska vrijednost, odnosno tzv. „vodeni post“ (eng. *water fast*), pri čemu je dozvoljena konzumacija vode, čaja i kave, čija je energetska vrijednost zanemariva.

Isprekidani post (eng. *intermittent fasting*, IF) može se provoditi na razne načine: jedan tjedan posta mjesečno, jedan dan tjedno, ili pak postoji vremenski okvir u danu (npr. 8, 6, ili 4 sata) tijekom kojeg se unosi hrana, a ostatak vremena se posti. Alternirajući post (po 1 dan hranjenja izmjenjuje se s po jednim danom posta) pokazao se učinkovit u snižavanju razina inzulina (Heilbronn i sur., 2005) i poboljšanoj osjetljivosti na inzulin (Halberg i sur., 2005), kao i sniženju koncentracija kolesterola i triacilglicerola u krvi, te sniženju krvnog tlaka (Varady i Hellerstein, 2007). Ramazanski post, tijekom kojeg Muslimani poste od izlaska do zalaska sunca, također se može okarakterizirati kao IF, te su pojedine studije utvrdile smanjenje sistoličkog i dijastoličkog krvnog tlaka, upalnih markera poput interleukina, te čimbenika nekroze tumora alfa (TNF- α), zbog čega su zaključili da post smanjuje upalne procese u tijelu te pozitivno djeluje na metabolizam. (Ünalacak i sur., 2011).

Za razliku od IF-a, nešto je slabije istražen dugotrajni post: izuzev laboratorijskih životinja, podaci su uglavnom ograničeni na analize slučajeva (eng. *case studies*). Ekstreman je primjer Angus Barbieri, koji je pod liječničkim nadzorom postio punih 382 dana bez zamijećenih štetnih posljedica (Stewart i Fleming, 1973). Redovita mjerenja i pregledi pokazali su da je, unatoč stanju hipoglikemije, bio sposoban za normalno funkcioniranje. Uzimao je suplemente natrija i kalija, te je sa početne težine od 207 kg, na kraju došao do 82 kg, te održao težinu kroz idućih 5 godina.

Kalorijska restrikcija ili kalorijska redukcija (eng. *caloric restriction / reduction*, CR) pojam je koji se odnosi na smanjenje dnevnog energetskeg unosa u odnosu na hranjenje *ad libitum*, i to za najmanje 10% u ljudi, tj. 20% kod glodavaca (Bales i Kraus, 2013.). Postoji znatan broj argumenata u korist posta u odnosu na CR (<https://www.youtube.com/watch?v=APZCfmgzoS0&list=PLHTVWlCipASkBiN->

[x_fmeKvkzmgA1WmQe&index=2&t=1s](#)), te studije koje potvrđuju terapijski učinak uzdržavanja od hrane, primjerice u liječenju hipertenzije (Goldhamer i sur., 2001) te dijabetesa tipa II (Ku i sur., 2017). Nadalje, tumorske se stanice brzo dijele, te za preživljavanje trebaju glukozu, jer im je izvor energije isključivo proces glikolize – stoga post može smanjiti rizik od malignih bolesti (Brandhorst i Longo, 2016).

Čuveni „Minnesota starvation experiment“, proveden tijekom Drugog svjetskog rata, pokazao je kako CR može dovesti do neuroloških smetnji poput depresije, te opadanja bazalnog metabolizma (eng. *basal metabolic rate*, BMR); učinak je bitno pojačan ako se prehrana k tome temeljila na ugljikohidratima (Keys i sur., 1950; Kalm i Semba, 2005). Stoga se pretpostavljalo da isto vrijedi i za (vodeni) post, no zbog biokemijskih i fizioloških mehanizama o kojima će biti riječi u ovome radu, to nije slučaj. Naprotiv, brojne su studije pokazale pozitivne zdravstvene učinke IF-a. (Tinsley i LaBounty, 2015; Barnosky i sur., 2014; Azevedo i sur., 2013; Mattson i Wan, 2005).

Cilj ovog rada je sažeti i objasniti najbitnije učinke uzdržavanja od hrane, odnosno napraviti pregled integrativne fiziologije posta.

3. Mitohondriji i oksidativni stres

Slobodni su radikali molekule su koje imaju nesparene elektrone u zadnjoj elektronskoj ljuski pojedinih atoma. Zbog toga privlače elektrone iz drugih molekula, tj. oksidiraju ih. Slobodni radikali mogu oštetiti proteine, lipide, te nukleinske kiseline, što može dovesti do mutacija u DNA, te nastanka karcinoma. Najčešći su slobodni radikali reaktivne vrste kisika (eng. *reactive oxygen species*, ROS). Osim zbog fizičkih uzroka kao što je zračenje, te kemijskih reagensa, ROS nastaju tijekom oksidativnog metabolizma u mitohondrijima, u lancu prijenosa elektrona (Yoshikawa i Naito, 2002). Do oksidativnog stresa dolazi kada je narušena ravnoteža nastanka i neutraliziranja slobodnih radikala (Betteridge, 2000). „Mitohondrijska teorija starenja“ tvrdi da je upravo akumulirana oksidacija biomolekula odgovorna za povišenu incidenciju malignih bolesti u starijoj dobi, te lošije funkcioniranje organskih sustava koje se tada primjećuje (Cadenas i Davies, 2000).

Sjedilački stil života uz kalorijski bogatu prehranu dovodi do energetskeg suviška; posljedično, mitohondrijski katabolizam energijom bogatih spojeva povisuje stopu stvaranja ROS-a. Nadalje, reakcijom suvišne glukoze s proteinima plazme nastaju krajnji produkti

glikacije (eng. *advanced glycation end products*, AGEs), koji su povezani s upalom, jer je utvrđeno da potiču daljnji nastanak slobodnih radikala. ROS povisuju količine upalnih markera te uzrokuju lipidnu peroksidaciju, čime povećavaju rizik od aterogeneze, odnosno srčanožilnih bolesti. Stoga se post istražuje kao terapija u liječenju i prevenciji kroničnih oboljenja povezanih sa stilom života, primjerice dijabetesa tipa II (Wright i sur., 2006).

Porodica proteina zvanih sirtuini identificirani su kao ključan faktor u procesu starenja, budući da imaju ulogu u popravku DNA te metabolizmu tijekom stresa. Gen *SIRT3* kodira tumor-supresorski protein lokaliziran u mitohondriju, a primijećena je njegova pojačana ekspresija tijekom alternirajućeg posta (Kim i sur., 2010); time je smanjena proizvodnja slobodnih radikala, te pospješeni stanični procesi popravka.

Još jedna studija alternirajućeg posta, ovaj put na ispitanicima s astmom, potvrdila je smanjene razine markera oksidativnog stresa, kao i snižene serumske vrijednosti kolesterola, triglicerida, te čimbenika nekroze tumora (TNF- α). (Johnson i sur., 2006)

4. Promjene u endokrinom sustavu

3.1. Uloga inzulina

Langerhansovi otočići u gušterači sintetiziraju i luče inzulin (β -stanice), glukagon (α -stanice) i somatostatin (δ -stanice). Nakon egzocitoznog oslobađanja i prijenosa krvlju do ciljanih tkiva, inzulin se veže na pripadajući tirozin-kinazni receptor za inzulin (INSR); potiče se kaskada prijenosa signala zbog koje unutarstanične vezikule s GLUT4 transporterom fuzioniraju sa staničnom membranom, omogućujući unos glukoze u stanice, te eventualnu pohranu u glikogen ili pretvorbu u trigliceride (Lehninger i sur., 2013).

Obroci bogati ugljikohidratima podižu razine inzulina, koji inhibira djelovanje lipaze ovisne o hormonima (eng. *hormone-sensitive lipase*, HSL), potrebne za mobilizaciju masti, sprječavajući tako razgradnju masti; učinku doprinosi i to što inzulin potiče ekspresiju gena za enzime koji sudjeluju u sintezi masnih kiselina, pomičući ravnotežu na stranu očuvanja masnih zaliha, umjesto potrošnje. Na hepatocitima, inzulin se veže na svoj receptor, koji fosforilira supstrat inzulinskog receptora (eng. *insulin-receptor substrate*, IRS-1), čime se pokreće kaskada prijenosa signala, rezultirajući aktivacijom SREBP1 (eng. *sterol regulatory element-binding protein 1*, protein koji se veže na regulatorni element sterola), koji pak aktivira

glukokinazu. Glukokinaza katalizira prvi korak u pohrani glukoze u glikogen. U slučaju popunjenih zaliha glikogena, SREBP1 stimulira *de novo* lipogenezu. *De novo* lipogeneza, do koje dolazi pod utjecajem inzulina, sprječava razgradnju glikogena, te učinkovito iskorištavanje masti (Lehninger i sur., 2013). Već spomenuti „Minnesota starvation experiment“ (Keys i sur., 1950) uključivao je CR pri kojoj su većinu kalorija činili ugljikohidrati, zbog čega je inzulin ometao mobilizaciju masti – zato su se razgrađivali mišići prije masti, što je dovelo do slabljenja lokomotornog sustava ispitanika; takav učinak nije primijećen kod studija isprekidanog, alternirajućeg, niti produljenog posta.

Djelujući na ekspresiju gena za ključne enzime metaboličkih putova, glukagon stimulira glukoneogenezu i inhibira glikolizu, dok za inzulin vrijedi obrnuto – stoga kanceroznim stanicama pogoduju visoke koncentracije inzulina. Naime, već je 1928. Warburg primijetio da tumori svih tipova imaju daleko više razine glikolize od zdravog tkiva, čak i kad im je dostupan kisik; tzv. Warburgov učinak koristi se za detekciju i terapiju raka (Lehninger i sur., 2013).

4.2. Dodatne endokrine reakcije

Pri redukciji kalorijskog unosa, štitnjača izlučuje manje aktivnog oblika tiroidnog hormona (trijodtironina), što uzrokuje smanjenje BMR-a. Međutim, iako CR usporava bazalni metabolizam, Fung i suradnici pokazali su da se tijekom posta BMR zapravo povećava (<https://www.youtube.com/watch?v=tIuj-oMN-Fk>).

Ljudski hormon rasta (eng. *human growth hormone*, HGH) anabolički je hormon koji se sintetizira u adenohipofizi, a jedna od uloga mu je mobilizacija masnih kiselina iz adipocita. Takvo djelovanje sprječava razgradnju mišićnog tkiva tijekom posta, mehanizmom inhibicije glukoneogeneze aminokiselina mišićnih proteina. S obzirom na to da mišićne stanice čak i u mirovanju troše više energije za održavanje nego adipociti, očuvanje mišića ključno je za održavanje visokog BMR-a. (Guyton i Hall, 2006). Razine HGH značajno rastu nakon drugog dana posta (Ho i sur., 1988; Espelund i sur., 2005).

Tijekom dugotrajnog posta, ponavljajuća je tema nestanak gladi nakon 2 do 3 dana, te njen povratak nakon 12 do 28 dana (Sinclair, 1911). Pojava se može objasniti peptidnim hormonom grelinom, koji potiče apetit, te ometa potrošnju masti. Poznato je da grelin izlučuju kiselinske stanice želuca kada je on prazan (Guyton i Hall, 2006). Međutim, studija koju su proveli Natalucci i sur. 2005., pratila je ispitanike tijekom 33 sata posta, te pokazala da su razine grelina najniže ujutro (nakon što je organizam cijelu noć bio bez hrane), a da rastu oko uobičajenog vremena obroka – vjerojatno posljedica naviknutosti na hranjenje u to doba. Međutim, taj porast

grelina spontano se smanjuje i ako ne dođe do hranjenja unutar 2 sata. Također, Espelund i sur. (2005.) pratili su ispitanike koji su postili 84 sata, pri čemu su i oni utvrdili da razine grelina u krvi rastu periodično, „u valovima“ na dnevnoj bazi, no sa svakim danom posta, postaju sve manje. Ove nedavne studije objašnjavaju Sinclairova opažanja s početka 20. stoljeća.

4.3. Hormonska uloga adipoznog tkiva

Neuroendokrina signalizacija masnog tkiva služi prijenosu informacije o energetskim zalihama organizma; proces uključuje izlučivanje adipokina (peptidnog hormona) leptina iz adipocita, koji potom putuje krvotokom, prelazi krvno-moždanu barijeru, te dolazi do hipotalamusa i arkuatne jezgre, gdje inhibira neuropeptid Y (NPY), uzrokujući smanjivanje apetita (Amitani i sur., 2013; Guyton i Hall, 2006).

Kao i na inzulin, organizam može postati rezistentan na leptin, a određena istraživanja potkrepljuju hipotezu da je upravo hiperinzulinemija uzrok leptinske rezistencije (Lustig i sur., 2004) Tijekom posta, razine inzulina su niske, što povećava osjetljivost na sâm inzulin, ali i na leptin. U jetri i mišićima, leptin stimulira proteinsku kinazu aktiviranu adenozin-monofosfatom (eng. *AMP-activated protein kinase*, AMPK), čije djelovanje inhibira sintezu masnih kiselina te aktivira njihovu oksidaciju, potičući procese koji generiraju energiju. Zbog ovakvog učinka, smatra se da je leptinski odgovor evoluirao kao prilagodba za preživljavanje razdoblja bez hrane. (Lehninger i sur., 2013).

5. Cirkadijani ritmovi u jetri i mišićima

Nedavno objavljena studija na miševima pokazala je kako post može poboljšati cjelokupno zdravlje i zaštititi od bolesti povezanih sa starenjem, djelujući na cirkadijane ritmove u jetri i skeletnim mišićima (Kinouchi i sur., 2018). Cirkadijani sat (eng. *circadian clock*) intrinzični je sustav mjerenja vremena, koji pomaže održanju homeostaze u promjenjivim uvjetima. Već su prijašnje studije utvrdile postojanje utjecaja hrane na periferna tkiva (Eckel-Mahan i sur., 2013; Hatori i sur., 2012; Kohsaka i sur., 2007), no ovo je bilo prvo istraživanje koje je utvrdilo regulaciju vremenskih gena ovisnih o postu (eng. *fasting-specific temporal genes*). Primjerice, utvrđeno je da su skeletni mišići dvostruko osjetljiviji na post nego jetra. Miševi su bili izloženi 24-satnom postu, pri čemu je utvrđena smanjena potrošnja kisika

te ukupna potrošnja energije, što indicira i manju stopu stvaranja ROS-a. Svi su opaženi učinci poništeni ponovnim hranjenjem. Autori ističu da se sličan stanični odgovor očekuje i u čovjeka, te smatraju kako bi se ova strategija mogla primijeniti u preventivne i terapijske svrhe (Kinouchi i sur., 2018).

6. Ketonska tijela kao alternativni izvor energije

5.1. Postizanje i učinci ketoze

Pojam ketoze odnosi se na preferentno korištenje ketona (ketonskih tijela) kao izvora energije, umjesto glukoze (Samoilova i sur., 2010.). Ketoza može se postići ograničavanjem količine ugljikohidrata u prehrani na manje od 5%, te proteina na manje od 20%, ili pak vodenim postom od minimalno 2-3 dana. Niske razine inzulina tijekom posta stimuliraju lipolizu, odnosno djelovanje HSL, te se trigliceridi razgrađuju na glicerol i masne kiseline. Glicerol se koristi u glukoneogenezi, čime se proizvodi glukoza za stanice poput eritrocita, koje ovise o njoj. Većina tkiva može koristiti masne kiseline kao izvor energije, uz izuzetak već spomenutih eritrocita, te mozga. Ketonska tijela (aceton, acetoacetat, i β -hidroksibutirat) u uobičajenim se uvjetima nalaze u krvi u malim količinama, dok tijekom posta njihov udio raste; nastaju iz masnih kiselina, te prelaze krvno-moždanu barijeru. Nakon otprilike 4 dana posta, mozak dobiva 75% energije iz ketona. (Fung, 2018). Valja razlikovati ketozu, tijekom koje organizam može normalno funkcionirati, od (dijabetičke) ketoacidoze, koja je patološko stanje sniženog pH u krvi i tkivima, to jest potencijalno letalan poremećaj homeostaze (Lehninger i sur. 2013).

Tijekom ketoze, razine razgranatih aminokiselina, posebice leucina, u krvi više su od uobičajenih, što igra ulogu u očuvanju mišićne mase; njihovo anaboličko djelovanje temelji se na strukturnoj sličnosti molekula ketonskih tijela i aminokiselina razgranatog lanca – ketonska se tijela preferentno troše za dobivanje energije, čime se sprječava razgradnja aminokiselina u glukoneogenezi, tj. gubitak mišićne mase (Volek i Phinney, 2012). Sprječavanju trošenja mišića za glukoneogenezu doprinosi i HGH, čije su razine povišene tijekom posta, a povišene razine epinefrina sprječavaju pad BMR-a (Fung, 2016).

Proizvodnja ketonskih tijela inhibirana je inzulinom, budući da on, između ostalog, potiče pretvorbu ugljikohidrata u triacilglicerole, kao što je opisano u 3.1. (Lehninger i sur., 2013).

Istraživanje inhibicije inzulina putem ketogene dijeta u pacijenata s malignim oboljenjima pokazalo je da stupanj ketoze korelira sa zaustavljanjem tijeka bolesti, ili čak remisijom raka (Fine i sur., 2012).

Kako se u masnoćama može pohraniti više energije nego u proteinima, te su mišići energetski „skupi“ za održavanje, pri smanjenom kalorijskom unosu gubi se više mišićne mase nego masnog tkiva, što smanjuje BMR (Bailor, 2013). Međutim taj se proces ne događa tijekom vodenog posta (ili ketogene dijeta), kada je glukoneogeneza većinski inhibirana. Međutim, ketogena dijeta često sadrži mnogo zasićenih masnoća, te premale količine vlakana i vitamina. To može povisiti rizik od srčano-žilnih bolesti, te imati brojne nuspojave, uključujući smrt (Stewart i sur., 2001; Kang i sur., 2004; Kang i sur., 2005; Bank i sur., 2008). Stoga je post preferentna alternativa ketogenoj dijeti, u svrhu postizanja ketoze.

6.2. Učinak na kognitivne sposobnosti

Pokazano je da stanje ketoze rezultira poboljšanjem fizičkih i mentalnih sposobnosti (Murray i sur., 2016), te da koncentracija ketona izravno korelira sa pospješenim pamćenjem (Krikorian i sur., 2012). Spekulira se da metabolički „prekidač“ između ketoze te razdoblja obilja može optimizirati funkcije mozga te njegovu prilagodljivost, što za posljedicu ima veću otpornost na neurodegenerativne bolesti, odnosno neuroplastičnost (Mattson i sur., 2018).

Studije na miševima podvrgnutim IF-u pokazale su manju degeneraciju kognitivnih funkcija te manje kliničkih simptoma Alzheimerove, Parkinsonove, te Huntingtonove bolesti (Longo i Mattson, 2014), a neuroprotektivno djelovanje ketona pokazano je i u studijama na ljudima (Maalouf i sur., 2009). Smatra se da mehanizam u podlozi ovog opažanja uključuje smanjeno oksidativno oštećenje, poboljšano neurotrofno signaliziranje te smanjenje upalnih procesa (Mattson, 2012). To su potvrdile studije u kojima je pokazano da se pri postu smanjuju razine proupalnih citokina (TNF- α , te interleukina IL-6 i IL-1- β), a istodobno rastu razine proteinskih šaperona i neurotrofnih faktora. (Arumugam i sur., 2010). Osim tijekom posta, moždani neurotrofni faktor (eng. *brain-derived neurotrophic factor*, BDNF) pojačano se sintetizira i tijekom fizičke aktivnosti, a pokazano je da mehanizam kojim fizička aktivnost podiže razine BDNF-a upravo povisivanje razine ketonskog tijela β -hidroksibutirata (Sleiman i sur., 2016). BDNF ima ključnu ulogu u stvaranju i održavanju veza među neuronima, odnosno učenju i pamćenju.

Mozak nije jedino tkivo koje preferentno koristi ketonska tijela za energiju – isto je pokazano i za srčani mišić, vjerojatno zato što ketonska tijela generiraju više energije po jedinici kisika u usporedbi s glukozom (Breg i sur., 2002).

U etički upitnoj studiji (Drenick i sur., 1972), pretilim pacijentima koji su postili 2 mjeseca injiciran je inzulin, pri čemu im je koncentracija glukoze u krvi (GUK) pala do 0,5 mmol/L, no nije došlo do hipoglikemijske reakcije, tj. nuspojava, jer su bili adaptirani na ketozu te nisu u značajnoj mjeri ovisili o glukozu. Takve bi vrijednosti GUK-a trebale rezultirati komom ili smrću, no nije primijećena nikakva promjena u kogniciji niti fizičkom stanju ispitanika.

Nadalje, novorođenčad ima upola niži GUK od prosječne odrasle osobe, te se procjenjuje da njihov mozak dobiva barem 50% energije iz ketona, upravo u vrijeme intenzivnog neurološkog razvoja, što je povezano s ulogom BDNF-a u stvaranju i održavanju veza među neuronima. (Muneta i sur., 2016).

Za razliku od opisanih pozitivnih učinaka ketoze, tijekom eksperimenta izgladnjivanja u Minnesoti (Keys i sur., 1950), ispitanici su jeli poglavito škrobnu hranu, što je spriječilo prelazak na ketozu, te rezultiralo brojnim nuspojavama. Također, eksperiment je netočno nazvan „izgladnjivanjem“, budući da ispitanici nisu uopće postili, već se radilo o CR. Ovakva drastična razlika u fiziološkim učincima pokazuje kako izjava „kalorija je kalorija“ nije ni približno točna, budući da se različiti spojevi metaboliziraju različitim biokemijskim putevima, izazivajući drugačije endokrine odgovore.

Zbog pozitivnog učinka na mozak, ketogene se dijetе često preporučuju u liječenju epilepsije te čak i nekih oblika raka, no zbog ranije spomenutih štetnih učinaka zasićenih masnoća i velike količine proteina u takvoj prehrani, čini se da je post bolji način postizanja ketoze nego prehrana bogata masnoćama.

7. Autofagija, rak, i dugovječnost

6.1. Autofagija

Stanice posjeduju mehanizme uklanjanja oštećenih molekula i organela: jedan od njih je ubiquitinacija, pri čemu se proteini označuju za razgradnju u proteasomu. Drugi, složeniji mehanizam, jest autofagija, koji uključuje usmjerenje oštećenih proteina, membrana te

organela na razgradnju unutar lizosoma. Autofagija je suprimirana redovitim i obilnim hranjenjem, i to preko mTOR puta (eng. *mammalian target of rapamycin*, kinaza koja regulira procese poput rasta i proliferacije), ovisnog o nutrijentima. Post inhibira mTOR, koji se nalazi unutar makromolekulskog kompleksa mTORC1, potičući autofagiju u mnogim tkivima, primjerice mišićima, bubrezima i jetri, čime se postiže uklanjanje nefunkcionalnih molekula i njihova zamjena. (Mattson i sur., 2014)

Proces autofagije karakterističan je za sve eukariote, te uključuje sekvestraciju citoplazmatskih komponenti u autofagosome obavijene dvostrukom membranom, koji potom fuzioniraju s lizosomima, te dolazi do degradacije i recikliranja komponenti. Pojačani procesi autofagije povezani su sa smanjenim rizikom od raka, kardiovaskularnih bolesti i neurodegenerativnih poremećaja, te sporijim starenjem. (Choi i sur., 2013)

Pronađeno je da neuralna autofagija, koja se može postići već kratkotrajnim postom, ima neuroprotektivno djelovanje, te se pokušavaju razviti lijekovi koji bi imitirali taj učinak. (Alirezaei i sur., 2010).

6.2. Utjecaj na karcinogenezu

Brojna su istraživanja pokazala pozitivan učinak alternirajućeg posta (Seigel i sur., 1988), kao i CR, na preživljavanje raka (Hursting i sur., 1994; Tannenbaum, 1996; Berrigan i sur., 2002). Međutim, dok IF i CR snižavaju glukozu u krvi za oko 15%, produljeni ju post snižava za 75% (Longo i Mattson, 2014; Lee i Longo, 2011), što je značajno s obzirom na ovisnost tumorskih stanica o glukozu (Vander Heiden i sur., 2009; Warburg, 1956). Nadalje, produljeni post snižava razine proliferativnog faktora rasta nalik inzulinu (eng. *insulin-like growth factor*, IGF-1) do 75%, dok to kronična CR postiže tek za 25% u miševa, a kod ljudi uopće ne, osim ako je kombinirana sa smanjenim unosom proteina – tada je smanjenje tek 30%. Smanjenje unosa proteina značajno je jer uklanja izvor dušika, sprječavajući sintezu proteina, a time i rast malignih stanica. Većina mutacija, pa tako i onih u kanceroznim stanicama, negativno djeluje na njihovo preživljavanje; primjerice, mutacije u metaboličkim putevima dovode do manje učinkovitog iskorištavanja energije. Snižene razine glukoze i aminokiselina u krvi omogućuju diferencijalno preživljavanje pri kojem su u prednosti stanice bez mutacija, budući da mogu preživjeti u uvjetima siromašnijim energijom (Brandhorst i Longo, 2016).

6.3. Kronične bolesti i dugovječnost

IF uzrokuje poboljšanje sastava tijela (eng. *body composition*), odnosno pospješuje uspostavljanje povoljnijeg omjera mišića i masnog tkiva. Osim toga, doprinosi općem zdravstvenom statusu, zbog čega se preporučuje umjesto CR (Tinsley i LaBounty, 2015). Ponajviše zahvaljujući procesu autofagije te smanjenog nastanka ROS-a, razdoblja posta umanjuju razinu staničnih oštećenja, te doprinose produženju životnog vijeka (Madeo i sur., 2010). Na životinjskom modelima, alternirajući je post pokazao zaštitno djelovanje protiv dijabetesa te srčano-žilnih bolesti, kao i smanjenu incidenciju pojedinih karcinoma, te višu stopu preživljavanja istih (Varady i Hellerstein, 2007). Za IF, pokazano je sniženje tlaka, kao i srčane frekvencije u mirovanju, te brža prilagodba na stres, odnosno oporavak od istog. Autori hipoteziraju da post u neuronima i miocitima uzrokuje blagi stres, na što se te stanice fiziološki i biokemijski prilagođavaju. Prilagodba dovodi do poboljšanog odgovora na veće stresove, kao što su ishemična oštećenja analogna moždanom i srčanom udaru. Molekularni mehanizam ove otpornosti uključuje povećanu produkciju BDNF-a, koja se može izazvati i drugim blagim stresorima, poput fizičke aktivnosti (Mattson i Wan, 2005). Konačno, zahvaljujući smanjenju gladi do kojeg dolazi tijekom dugoročnog posta (Sinclair, 1911), ovaj je pristup koristan pretilim pacijentima, koji smanjenjem tjelesne mase smanjuju i mnoge rizične čimbenike koji bi doveli do skraćenja životnog vijeka.

7. Sprječavanje sindroma ponovnog hranjenja

Nakon prekida dugoročnog posta, može se javiti tzv. sindrom ponovnog hranjenja (eng. *refeeding syndrome*): riječ je o potencijalno letalnoj promjeni koncentracije elektrolita i količine tjelesnih tekućina, do koje dolazi kod ponovnog hranjenja pothranjenih pacijenata. Od kliničkih simptoma, najznačajnija je hipofosfatemija, no bitan je i manjak tijamina (vitamin B1), kao i promijene razina minerala (natrij, magnezij, kalij), te glukoze, proteina, i masnoća. Glavni je uzrok sindroma korištenje parenteralnih otopina koje ne sadrže fosfate, što izaziva neravnotežu elektrolita. Tijekom posta aktiviraju se mehanizmi čuvanja minerala, pri čemu se

smanjuje njihova ekskrecija, te je njihova količina u krvi konstantna – prebrzo hranjenje može narušiti tu ravnotežu. Naime, porast glukoze u krvi uzrokuje porast inzulina, anaboličkog hormona, zbog čega se aktiviraju procesi sinteze glikogena, proteina i masti, koji troše tiamin, fosfate, magnezij i kalij, dovodeći do naglog pada njihove koncentracije u serumu. Poremećaj kalija i magnezija osobito je opasan, budući da može dovesti do srčanog zastoja ili neuromuskularnih komplikacija. Nagli porast glukoze može dovesti do masne jetre, zbog pojačane sinteze triglicerida (posredovane inzulinom), a nagli unos ugljikohidrata dovodi do zadržavanja natrija i vode, što potencijalno uzrokuje edeme i aritmiju. U svrhu prevencije, nužno je postupno povećavati količinu nutrijenata, te pratiti sastav krvi. Bitno je naglasiti da adekvatno proveden dugotrajni post, uz liječnički nadzor i eventualnu suplementaciju, ne bi trebao dovesti do pothranjenosti, a time ni do ovog sindroma (Mehanna i sur., 2008).

8. Literatura

- Alirezaei M, Kemball CC, Flynn CT, Wood MR, Whitton JL, Kiosses, WB (2010.) Short-term fasting induces profound neuronal autophagy. *Autophagy* **6**, 702-710.
- Amitani M, Asakawa A, Amitani H, Inui A (2013.) The role of leptin in the control of insulin-glucose axis. *Frontiers in Neuroscience* **7**, 1-12.
- Arumugam TV, Phillips TM, Cheng A, Morrell CH, Mattson MP, Wan R (2010.) Age and energy intake interact to modify cell stress pathways and stroke outcome. *Annals of Neurology* **67**, 41–52.
- Azevedo FR, Ikeoka D, Caramelli B (2013.) Effects of intermittent fasting on metabolism in men. *Revista da Associação Médica Brasileira* **59**, 167–173.
- Bales CW, Kraus WE (2013.) Caloric restriction: implications for human cardiometabolic health. *Journal of cardiopulmonary rehabilitation and prevention* **33**, 201–208.
- Bailor J. (2013.) The Calorie Myth: How to Eat More, Exercise Less, Lose Weight, and Live Better. Harper Wave; 1st edition
- Bank IM, Shemie SD, Rosenblatt B, Bernard C, Mackie AS (2008.) Sudden Cardiac Death in Association With the Ketogenic Diet. *Pediatric Neurology* **39**, 429-431.

- Barnosky AR, Hoddy KK, Unterman TG, Varady KA (2014.) Intermittent fasting vs daily calorie restriction for type 2 diabetes prevention: a review of human findings. *Translational Research* **164**, 302-311.
- Berrigan D, Perkins SN, Haines DC, Hursting SD (2002.) Adult-onset calorie restriction and fasting delay spontaneous tumorigenesis in p53-deficient mice. *Carcinogenesis* **23**, 817–822.
- Betteridge DJ (2000.) What is oxidative stress? *Metabolism* **49**, 3-8.
- Brandhorst S, Longo VD (2016.) Fasting and Caloric Restriction in Cancer Prevention and Treatment. *Recent Results in Cancer Research* **207**, 241-266.
- Breg JM, Tymoczko JL, Stryer L. (2002.) Biochemistry, W. H. Freeman & co.
- Cadenas E, Davies KJ (2000.) Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine* **29**, 222-230.
- Choi AMK, Ryter SW, Levine B (2013.) Autophagy in Human Health and Disease. *New England Journal of Medicine* **368**, 651–662.
- Drenick EJ, Alvarez LC, Tamasi GC, Brickman AS (1972.) Resistance to Symptomatic Insulin Reactions after Fasting. *The Journal of Clinical Investigation* **51**, 2757-2762.
- Eckel-Mahan KL, Patel VR, de Mateo S, Orozco-Solis R, Ceglia NJ, Sahar S, Dilag-Penilla SA, Dyar KA, Baldi P, Sassone-Corsi P (2013) Reprogramming of the Circadian Clock by Nutritional Challenge. *Cell* **155**, 1464–1478.
- Espelund U, Krarup Hansen T, Højlund K, Beck-Nielsen H, Clausen J, Sehested Hansen B, Orskov H, Jorgensen J, Frystyk J (2005.) Fasting Unmasks a Strong Inverse Association between Ghrelin and Cortisol in Serum: Studies in Obese and Normal-Weight Subjects. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* **90**, 741-746.
- Fine EJ, Segal-Isaacson CJ, Feinman RD, Herszkopf S, Romano MC, Tomuta N, Bontempo AF, Negassa A, Sparano JA (2012.) Targeting insulin inhibition as a metabolic therapy in advanced cancer: a pilot safety and feasibility dietary trial in 10 patients. *Nutrition* **28**, 1028-1035.
- Fung J (2016.) The Complete Guide to Fasting: Heal Your Body Through Intermittent, Alternate-Day, and Extended Fasting. Victory Belt Publishing; 1st edition
- Fung J (2018.) The Diabetes Code. Greystone Books; 1st edition.

- Goldhamer A, Lisle D, Parpia B, Anderson SV, Campbell TC (2001.) Medically supervised water-only fasting in the treatment of hypertension. *Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics*, **24**, 335-339.
- Guyton, AC, Hall, JE (2006.) Guyton and Hall textbook of medical physiology. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier.
- Halberg N, Henriksen M, Söderhamn N, Stallknecht B, Ploug T, Schjerling P, Dela F (2005.) Effect of intermittent fasting and refeeding on insulin action in healthy men. *Journal of Applied Physiology* **99**, 2128-2136.
- Hatori M, Vollmers C, Zarrinpa, A, DiTacchio L, Bushong EA, Gill S, Leblanc M, Chaix A, Joens M, Fitzpatrick JA, Ellisman MH, Panda S (2012). Time-restricted feeding without reducing caloric intake prevents metabolic diseases in mice fed a high-fat diet. *Cell Metabolism* **15**, 848–860.
- Heilbronn LK, Smith SR, Martin CK, Anton SD, Ravussin E (2005.) Alternate-day fasting in nonobese subjects: effects on body weight, body composition, and energy metabolism. *The American Journal of Clinical Nutrition* **81**, 69-73.
- Ho KY, Veldhuis JD, Johnson ML, Furlanetto R, Evans WS, Alberti KG, Thorner MO (1988.) Fasting enhances growth hormone secretion and amplifies the complex rhythms of growth hormone secretion in man. *The Journal of clinical investigation* **81**, 968-975.
- Hursting SD, Perkins SN, Phang JM (1994.) Calorie restriction delays spontaneous tumorigenesis in p53-knockout transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **91**, 7036–7040.
- Johnson JB, Summer W, Cutler RG, Martin B, Hyun DH, Dixit VD, Pearson M, Nassar M, Telljohann R, Maudsley S, Carlson O, John S, Laub DR, Mattson MP (2006.) Alternate day calorie restriction improves clinical findings and reduces markers of oxidative stress and inflammation in overweight adults with moderate asthma. *Free radical biology & medicine* **42**, 665-674.
- Kalm LM, Semba RD (2005.) They Starved So That Others Be Better Fed: Remembering Ancel Keys and the Minnesota Experiment, *Journal of Nutrition* **135**, 1347–1352.
- Kang HC, Chung DE, Kim DW, Kim HD (2004.) Early- and late-onset complications of the ketogenic diet for intractable epilepsy. *Epilepsia* **45**, 1116-1123.

- Kang HC, Kim YJ, Kim DW, Kim HD (2005.) Efficacy and Safety of the Ketogenic Diet for Intractable Childhood Epilepsy: Korean Multicentric Experience. *Epilepsia* **46**, 272-279.
- Keys A, Brožek J, Henschel A, Mickelsen O, Taylor HL (1950.) The Biology of Human Starvation (2 volumes). St. Paul, MN: University of Minnesota Press, MINNE edition. ISBN 978-0-8166-7234-9.
- Kinouchi K, Magnan C, Ceglia N, Liu Y, Cervantes M, Pastore N, Huynh T, Ballabio A, Baldi P, Masri S, Sassone-Corsi P (2018.) Fasting Imparts a Switch to Alternative Daily Pathways in Liver and Muscle. *Cell reports* **25**, 3299–3314.
- Kohsaka A, Laposky AD, Ramsey KM, Estrada C, Joshu C, Kobayashi Y, Turek FW, Bass J (2007). High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice. *Cell Metabolism* **6**, 414–421.
- Krikorian R, Shidler MD, Dangelo K, Couch SC, Benoit SC, Clegg DJ (2012.) Dietary ketosis enhances memory in mild cognitive impairment. *Neurobiology of aging* **33**, 19-27.
- Ku M, Ramos MJ, Fung J (2017.) Therapeutic fasting as a potential effective treatment for type 2 diabetes: A 4-month case study. *The Journal of Insulin Resistance* **2**, 1-5.
- Lee C, Longo VD (2011.) Fasting vs dietary restriction in cellular protection and cancer treatment: from model organisms to patients. *Oncogene* **30**, 3305–3316.
- Lehninger A, Nelson DL, Cox MM (2013.) Lehninger's Principles of Biochemistry. 6. izdanje, New York, W.H. Freeman and co.
- Longo VD, Mattson MP (2014.) Fasting: Molecular Mechanisms and Clinical Applications. *Cell Metabolism* **19**, 181-192.
- Longo VD, Panda S (2016.) Fasting, Circadian Rhythms, and Time-Restricted Feeding in Healthy Lifespan. *Cell Metabolism* **23**, 1048-1059.
- Lustig RH, Sen S, Soberman JE, Velasquez-Mieyer PA (2004.) Obesity, leptin resistance, and the effects of insulin reduction. *International Journal of Obesity* **28**, 1344–1348.
- Maalouf M, Rho JM, Mattson MP (2009.) The neuroprotective properties of calorie restriction, the ketogenic diet, and ketone bodies. *Brain research reviews*, **59**, 293-315.
- Madeo F, Tavernarakis N, Kroemer G (2010.) Can autophagy promote longevity? *Nature Cell Biology*, **12**, 842–846.

- Mattson MP, Moehl K, Ghena N, Schmaedick M, Cheng A (2018.) Intermittent metabolic switching, neuroplasticity and brain health. *Nature Reviews Neuroscience* **19**, 63-80.
- Mattson MP, Longo VD, Harvie M (2017.) Impact of intermittent fasting on health and disease processes. *Ageing Research Reviews* **39**, 46-58.
- Mattson MP, Allison DB, Fontana L, Harvie M, Longo VD, Malaisse WJ, Mosley M, Notterpek L, Ravussin E, Scheer FAJL, Seyfried TN, Varady KA, Panda S (2014.) Meal frequency and timing in health and disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **111**, 16647-16653.
- Mattson MP (2012.) Energy intake and exercise as determinants of brain health and vulnerability to injury and disease. *Cell Metabolism* **16**, 706–722.
- Mattson MP, Wan R (2005.) Beneficial effects of intermittent fasting and caloric restriction on the cardiovascular and cerebrovascular systems. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **16**, 129-137.
- Mehanna HM, Moledina J, Travis J (2008.) Refeeding syndrome: what it is, and how to prevent and treat it. *The BMJ* **336**, 1495-1498.
- Moore J, Fung J (2016.) *The Complete Guide to Fasting: Heal Your Body Through Intermittent, Alternate-Day, and Extended Fasting*. Victory Belt Publishing, 74-75.
- Muneta T, Kawaguchi E, Nagai Y, Matsumoto M, Ebe K, Watanabe H, Bando H (2016.) Ketone body elevation in placenta, umbilical cord, newborn and mother in normal delivery. *Glycative Stress Research* **3**, 133-140.
- Murray AJ, Knight NS, Cole MA, Cochlin LE, Carter E, Tchabanenko K, Pichulik T, Gulston MK, Atherton HJ, Schroeder MA, Deacon RMJ, Kashiwaya Y, King MT, Pawlosky R, Rawlins JNP, Tyler DJ, Griffin JL, Robertson J, Veech RL, Clarke K (2016.) Novel ketone diet enhances physical and cognitive performance. *The FASEB Journal* **30**, 4021-4032.
- Samoilova M, Weisspapir M, Abdelmalik P, Velumian AA, Carlen PL (2010.) Chronic in vitro ketosis is neuroprotective but not anti-convulsant. *Journal of Neurochemistry* **113**, 826–835.

- Siegel I, Liu TL, Nepomuceno N, Gleicher N (1988.) Effects of short-term dietary restriction on survival of mammary ascites tumor-bearing rats. *Cancer Investigation* **6**, 677– 680.
- Sinclair U (1911.) The fasting cure. Mitchell Kennerley, New York and London.
- Sleiman SF, Henry J, Al-Haddad R, El Hayek L, Abou Haidar E, Stringer T, Ulja D, Karuppagounder SS, Holson EB, Ratan RR, Ninan I, Chao MV (2016.) Exercise promotes the expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) through the action of the ketone body β -hydroxybutyrate. *Elife* **5**, 1-21.
- Stewart WA, Gordon K, Camfield P (2001.) Acute pancreatitis causing death in a child on the ketogenic diet. *Journal of Child Neurology* **16**, 682.
- Stewart WK, Fleming LW (1973.) Features of a successful therapeutic fast of 382 days' duration. *Postgraduate Medical Journal* **49**, 203-209.
- Tannenbaum A (1996.) The dependence of tumor formation on the composition of the calorie-restricted diet as well as on the degree of restriction. 1945. *Nutrition* **12**, 653–654.
- Tinsley GM, La Bounty PM (2015.) Effects of intermittent fasting on body composition and clinical health markers in humans. *Nutrition Reviews* **73**, 661-674.
- Ünalacak M, Kara IH, Baltaci D, Erdem O, Bucaktepe PGE (2011.) Effects of Ramadan Fasting on Biochemical and Hematological Parameters and Cytokines in Healthy and Obese Individuals. *Metabolic Syndrome and Related Disorders* **9**, 157-161.
- Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB (2009.) Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* **324**, 1029–1033.
- Varady KA, Hellerstein MK (2007.) Alternate-day fasting and chronic disease prevention: a review of human and animal trials. *The American Journal of Clinical Nutrition* **86**, 7–13.
- Volek JS, Phinney SD (2012.) The Art and Science of Low Carbohydrate Performance: A Revolutionary Program to Extend Your Physical and Mental Performance Envelope. Beyond Obesity LLC
- Warburg O (1956.) On respiratory impairment in cancer cells. *Science* **124**, 269–270.
- Wright Jr E, Scism-Bacon JL, Glass LC (2006.) Oxidative stress in type 2 diabetes: the role of fasting and postprandial glycaemia. *International Journal of Clinical Practice* **60**, 308-314.

Yoshikawa T, Naito Y (2002.) What Is Oxidative Stress? *Journal of the Japan Medical Association* **45**, 271-276.

https://www.youtube.com/watch?v=APZCfmgzoS0&list=PLHTVWIcipASkBiN-x_fmeKvkzmgA1WmQe&index=2&t=1s (pristupljeno 2.3.2019.)

<https://www.youtube.com/watch?v=tIuj-oMN-Fk> (pristupljeno 2.3.2019.)

https://www.youtube.com/watch?v=xlfZvnV4v50&list=PLHTVWIcipASkBiN-x_fmeKvkzmgA1WmQe&index=6&t=0s (pristupljeno 1.3.2019.)

9. Sažetak

S obzirom na čovjekovu evolucijsku sposobnost preživljavanja dužeg vremena bez hranjenja, brojna su se istraživanja bavila potencijalnim zdravstvenim dobrobitima posta. Isprekidani, alternirajući te dugoročni post svi pokazuju pozitivne učinke na zdravlje, pod uvjetom da se adekvatno provode. Dolazi do smanjenja oksidativnih oštećenja, razine upalnih markera, kolesterola i triglicerida, poboljšanja kognitivnih funkcija, kao i povećane osjetljivosti na inzulin i leptin, što smanjuje rizik od kroničnih bolesti, te doprinosi dugovječnosti. Bitan mehanizam ovih promjena uključuje prijelaz na ketonska tijela i masne kiseline kao izvor energije; međutim, za razliku od ketogene dijeta, ovaj pristup ne uključuje zdravstvene rizike povezane s velikom količinom masti u prehrani. Nadalje, potiče se proces autofagije, povezan s neuro- i kardioprotektivnim djelovanjem, te usporavanjem starenja. Potpuni post ima prednost nad kalorijskom redukcijom jer održava normalnu razinu bazalnog metabolizma, te sprječava endokrine i psihološke posljedice niskokalorične prehrane bazirane na ugljikohidratima; također čuva mišićnu masu, inhibicijom glukoneogeneze u jetri. Studije na životinjama, kao i na ljudskim dobrovoljcima, potvrđuju potencijal uzdržavanja od hrane da produlji životni vijek, ponajviše zahvaljujući nižoj razini slobodnih radikala. Nakon perioda posta nužno je polako ponovno uvoditi nutrijente u prehranu, kako bi se spriječile nuspojave povezane sa sindromom ponovnog hranjenja.

10. Summary

Considering the fact that humans are capable of surviving without food for a significant amount of time, extensive research has been done on the health benefits of fasting. Intermittent, alternating, and long-term fasting have all shown positive effects on human health, if they are adequately implemented. A reduction of oxidative damage, levels of inflammatory markers, cholesterol, and triglycerides has been observed, in addition to improved cognitive functions and increased sensitivity to insulin and leptin, which reduces the risk of chronic diseases, thus being conducive to longevity. An important mechanism of these changes involves the transition to ketone bodies and fatty acids as a source of energy; however, unlike the ketogenic diet, this approach does not involve the health risks associated with the consumption of large amounts of fat. Furthermore, fasting promotes autophagy, which has neuro- and cardioprotective effects, in addition to slowing the aging process. Water fasting is superior to caloric restriction due to its ability to maintain a normal basal metabolic rate, hence preventing the endocrine and psychological side-effects of a low-calorie, carbohydrate-based diet; fasting also prevents muscle-loss, by inhibiting gluconeogenesis in the liver. Both animal and human studies confirm the potential of fasting to extend life expectancy, largely owing to the reduction of free-radical generation. After a period of fasting, it is necessary to gradually introduce nutrients back into one's diet, in order to prevent the side effects of refeeding.